

明細書

反応性チップと、このチップを用いた標的物質の結合検出方法

5

技術分野

この出願の発明は、反応性チップと、このチップを用いた標的物質の検出方法
10 に関するものである。さらに詳しくは、標的物質とキャプチャープローブとのミ
スハイブリダイゼーションを排除することができ、しかも短時間による正確な検
出が可能であり、さらには検出の手段や対象を様々に選択することのできる新し
い反応性チップと、このチップを用いた標的物質の新しい検出方法に関するもの
である。

15

背景技術

遺伝子の構造や遺伝子発現様式の大量かつ迅速な解析を目的として、様々な反
20 応性チップが用いられている。この反応性チップは、スライドガラス等の基板上
に数千から数万種以上の異なるキャプチャープローブがスポットとして整列固定
されており、蛍光等によって標識した標的物質のキャプチャープローブへの結合
の有無を指標として、標的物質の特定やサンプル中における標的物質の量を定量
することができるようになっている。チップ上に固定されるキャプチャープロー
25 プは、解析する標的物質の種類によって異なる。例えば DNA や RNA が標的物
質となる場合は、それらと相補性結合（ハイブリダイゼーション）が可能な 2 本
鎖および 1 本鎖 DNA 断片やポリヌクレオチド鎖、オリゴヌクレオチド鎖等がキ
ャプチャープローブとして採用され、これらは DNA チップ（または DNA アレ
イ）と呼ばれている（例えば、特許文献 1-4、非特許文献 1、2 を参照）。ま
30 た、タンパク質チップの場合には、タンパク質やペプチドと、それらと特異的に

結合する受容体や抗体が、標的物質-キャプチャプローブの関係を構成する。

5 反応性チップにおける標的物質の結合は、例えば、標識化標的物質を含む試料（サンプル溶液）を反応性チップに接触させ、一定時間反応させて標的物質をキャプチャプローブに結合させ、非結合の物質を除去した後、反応性チップ上の標識位置を検出することによって、標的物質がどのキャプチャプローブに結合したかを判定する。また、標識シグナルの強度を測定することによって、標的物質の量を定量化することも可能である。

10 従来の反応性チップの場合には、サンプル溶液中の標的物質が自然拡散によって対応するキャプチャプローブに接近し、結合することができるように、サンプル溶液と反応性チップとを長時間に渡って反応させていた。このため、検出結果を得るまでに、多くの時間を必要とするという問題点を有していた。

15 また、反応性チップによる標的物質の検出精度は、標的物質とキャプチャプローブとの特異的な結合に依存している。例えば DNA チップの場合、標的 DNA とプローブ DNA が互いの完全な相補性によって結合することが理想であるが、実際には、数個のミスマッチによっても標的 DNA はプローブ DNA に結合してしまう可能性がある。特に、標的 DNA がサンプル溶液中で自然拡散によりプローブ DNA に接近した場合には、このミスマッチ結合（ミスハイブリダイゼーション）の危険性は極めて高かった。

25 このような問題点を解決する DNA チップとして、特許文献 5 の発明（ナノチップ）が知られている。このナノチップは、電極表面にプローブ DNA を固定し、この電極に正の直流電流を通電した状態で標的 DNA とプローブ DNA とをハイブリダイゼーションさせる。DNA 断片（標的 DNA）は負に電荷しているため、正の電荷をもつプローブ DNA に短時間で接近し、結合することができる。そして、ハイブリダイゼーション反応が終了した後は、電極に負の直流電流を流す。これによって、プローブ DNA と標的 DNA が共に負に電荷した状態となり、
30 プローブ DNA に対してミスマッチ結合している標的 DNA はプローブ DNA から排

斥され、正しい相補性によって結合した標的 DNA のみがプローブ DNA に残る。

ただし、このナノチップの場合には、DNA が通常は負に電荷していることを利用しているため、タンパク質やペプチドを利用するタンパク質チップには適用
5 することができない。

参考文献

- 10 特許文献 1：米国特許第 5,474,796 号明細書
- 特許文献 2：米国特許第 5,605,662 号明細書
- 特許文献 3：国際公開第 95/251116 号パンフレット
- 特許文献 4：国際公開第 95/35505 号パンフレット
- 特許文献 5：特表 2001-501301 号公報
- 15 非特許文献 1： Schena, M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93:10614-10619, 1996.
- 非特許文献 2： Heller, R. A. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:2150-2155, 1997.

20

発明の開示

この出願の発明は、以上のとおりの事情に鑑みてなされたものであって、広範
な標的物質に対して、反応時間の短縮を可能とし、しかもミスマッチ結合を効果
25 的に予防して高精度な検出を可能とする新しい反応性チップを提供することを課
題としている。

またこの出願の発明は、前記の反応性チップを用いた新しい標的物質検出方法
を提供することを課題としている。

30

この出願の第 1 の発明は、基板上に並列配置された 3 以上の振動面のそれぞれに、標的物質に結合するキャプチャプローブが固定されていることを特徴とする反応性チップである。

- 5 第 2 の発明は、前記第 1 発明の一態様であって、各振動面がそれぞれ、第 1 電極と第 2 電極間に圧電／電歪素子を介在させた振動発生部を有する反応性チップである。

- 10 第 3 の発明は、前記第 2 発明の一態様であって、キャプチャプローブ固定面がコーティングされている反応性チップである。

第 4 の発明は、前記第 2 または第 3 発明の一態様であって、基板が肉厚領域とその周囲の肉厚領域を有し、肉厚領域の上面に振動発生部を有する反応性チップである。

15

第 5 の発明は、前記第 2 または第 3 発明の別の態様であって、基板が肉厚領域とその周囲の肉厚領域を有し、肉厚領域の下面に振動発生部を有する反応性チップである。

- 20 第 6 の発明は、前記第 2 から第 5 発明の一態様であって、第 1 電極と第 2 電極のそれぞれのリード線が、振動発生部毎に独立である反応性チップである。

第 7 の発明は、前記第 2 から第 5 発明の別の態様であって、第 1 電極と第 2 電極のいずれか一方のリード線が共通である反応性チップである。

25

第 8 の発明は、前記第 2 から第 7 発明の一態様であって、圧電／電歪素子の共振周波数を測定する手段を有する反応性チップである。

- 30 第 9 の発明は、前記第 2 から第 7 発明の別の態様であって、第 1 電極表面がキャプチャプローブ固定面であり、第 1 電極および第 2 電極が、交流電源に

加え、さらに直流電源にも導通している反応性チップである。

第 10 の発明は、前記第 2 から第 7 発明のさらに別の態様であって、各振動面に、それぞれ異種のキャプチャプローブを固定した反応性チップである。

5

第 11 の発明は、前記第 10 発明の一態様であって、圧電／電歪素子の共振周波数を測定する手段を有する反応性チップである。

第 12 発明は、前記第 10 発明の別の態様であって、第 1 電極表面がキャプチャプローブ固定面であり、第 1 電極および第 2 電極が、交流電源に加え、さらに直流電源にも導通している反応性チップである。

10

第 13 発明は、前記第 2 から第 7 発明のさらにまた別の態様であって、3 以上の振動面を同一列、または 4 以上の振動面を n (n は 2 以上) $\times m$ (m は 2 以上) の格子状に整列配置し、同一列の各振動面に同一種のキャプチャプローブを固定した反応性チップである。

15

第 14 の発明は、前記第 13 発明の一態様であって、圧電／電歪素子の共振周波数を測定する手段を有する反応性チップである。

20

第 15 の発明は、前記第 13 発明の別の態様であって、第 1 電極表面がキャプチャプローブ固定面であり、第 1 電極および第 2 電極が、交流電源に加え、さらに直流電源にも導通している反応性チップである。

第 16 の発明は、前記第 2 から第 7 発明のまたさらに別の態様であって、3 以上の振動面を同一列、または 4 以上の振動面を n (n は 2 以上) $\times m$ (m は 2 以上) の格子状に整列配置し、同一列の振動面に、標的物質の異なる部位に結合するキャプチャプローブをそれぞれ固定した反応性チップである。

25

第 17 の発明は、前記第 16 発明の一態様であって、圧電／電歪素子の共振周

30

波数を測定する手段を有する反応性チップである。

第 18 の発明は、前記第 16 発明の別の態様であって、第 1 電極表面がキャプチャープローブ固定面であり、第 1 電極および第 2 電極が、交流電源に加え、
5 さらに直流電源にも導通している反応性チップである。

第 19 の発明は、キャプチャープローブと結合する標的物質を検出する方法であって、前記第 10 発明の反応性チップの振動面を振動させた状態で、標識化標的物質を含む試料を反応性チップのキャプチャープローブに接触させ、振動面の
10 振動を停止し、標識を指標としてキャプチャープローブに結合した標的物質を検出することを特徴とする標的物質の検出方法である。

第 20 の発明は、第 19 発明の一態様であって、振動面を振動させると共に、温度を経時的に変化させた状態で試料をキャプチャープローブに接触させる検出
15 方法である。

第 21 の発明は、キャプチャープローブと結合する標的物質を検出する方法であって、前記第 11 発明の反応性チップの振動面を振動させた状態で、標的物質を含む試料を反応性チップのプローブに接触させ、圧電／電歪素子の共振周波数の
20 変化を指標として標的物質を検出する標的物質の検出方法である。

第 22 の発明は、前記第 21 発明の一態様であって、反応性チップの振動面を振動させると共に、温度を経時的に変化させた状態でプローブに試料を接触させ、圧電／電歪素子の共振周波数の変化を指標として標的物質を経時的に検出する検
25 出方法である。

第 23 の発明は、キャプチャープローブと結合する標的物質を検出する方法であって、前記第 12 発明の反応性チップの振動面を振動させた状態で、標識化標的物質を含む試料を反応性チップのプローブに接触させ、振動面の振動を停止し
30 た後、キャプチャープローブ固定面である第 1 電極に負の直流電流を一定時間通

電し、標識を指標としてキャプチャープローブに結合した標的物質を検出することを特徴とする標的物質の検出方法である。

5 第 24 の発明は、複数種の標的物質のキャプチャープローブに対する親和性を検出する方法であって、前記第 13 発明の反応性チップの同一列振動面の各振動面を異なる振幅で振動させた状態で、各種の標識化標的物質を反応性チップのキャプチャープローブに接触させ、振動面の振動を停止し、標識を指標としてキャプチャープローブに結合した標的物質のそれぞれのプローブに対する親和性の程度を検出することを特徴とする標的物質の検出方法である。

10

第 25 の発明は、前記第 24 発明の一態様であって、振動面を振動させると共に、温度を経時的に変化させた状態で試料をキャプチャープローブに接触させる検出方法である。

15 第 26 の発明は、複数種の標的物質のキャプチャープローブに対する親和性を検出する方法であって、前記第 14 発明の反応性チップの同一列振動面を異なる振幅で振動させた状態で、標的物質を反応性チップのキャプチャープローブに接触させ、圧電／電歪素子の共振周波数の変化を指標として標的物質のそれぞれのキャプチャープローブに対する親和性の程度を検出する標的物質の検出方法である。

20

第 27 の発明は、前記第 26 発明の一態様であって、反応性チップの振動面を振動させると共に、温度を経時的に変化させた状態でキャプチャープローブに試料を接触させ、圧電／電歪素子の共振周波数の変化を指標として標的物質の有無
25 を経時的に検出する検出方法である。

第 28 の発明は、複数種の標的物質のキャプチャープローブに対する親和性を検出する方法であって、前記第 15 発明の反応性チップの同一列振動面の各振動面を異なる振幅で振動させた状態で、各種の標識化標的物質を反応性チップのキャプチャープローブに接触させ、振動面の振動を停止した後、プローブ固定面で
30

ある第1電極に負の直流電流を一定時間通電し、標識を指標としてキャプチャープローブに結合した標的物質のそれぞれのプローブに対する親和性の程度を検出することを特徴とする標的物質の検出方法である。

- 5 第29の発明は、標記物質の変異を検出する方法であって、前記第16発明の反応性チップの同一列振動面を振動させた状態で、標識化標的物質含む試料を反応性チップのキャプチャープローブに接触させ、振動面の振動を停止し、標識を指標としてキャプチャープローブに結合した標的物質を検出することによって、標的物質の変異を検出することを特徴とする標的物質の検出方法である。

10

- 第30の発明は、標記物質の変異を検出する方法であって、前記第17発明の反応性チップの同一列振動面を振動させた状態で、標的物質を含む試料を反応性チップのキャプチャープローブに接触させ、圧電／電歪素子の共振周波数の変化を指標として標的物質の有無を検出することによって、標的物質の変異を検出することを特徴とする標的物質の検出方法である。

15

- 第31の発明は、標記物質の変異を検出する方法であって、前記第18発明の反応性チップの同一列振動面を振動させた状態で、標識化標的物質含む試料を反応性チップのキャプチャープローブに接触させ、振動面の振動を停止した後、
20 ローブ固定面である第1電極に負の直流電流を一定時間通電し、標識を指標としてキャプチャープローブに結合した標的物質を検出することによって、標的物質の変異を検出することを特徴とする標的物質の検出方法である。

25

図面の簡単な説明

図1は、この発明の反応性チップにおける基本構造の一例を示した側面図である。

30

図2は、この発明の反応性チップにおける基本構造の別の例を示した側面図

である。

図 3 は、この発明の反応性チップにおける基本構造のさらに別の例を示した平面図および側面図である。

5

図 4 は、この発明の反応性チップの一実施例を示した側面図である。

図 5 は、この発明の反応性チップの別の実施例を示した側面図である。

10 図 6 は、この発明の反応性チップのさらに別の実施例を示した側面図である。

図 7 は、この発明の反応性チップのまたさらに別の実施例を示した平面図および側面図である。

15 図 8 は、この発明の反応性チップのさらにまた別の実施例を示した平面図である。

図 9 は、この発明の反応性チップにおけるキャプチャプローブの配置例を示した模式図である。四角は振動面を示し、アルファベット文字の違いは、キャ
20 プチャプローブが異なることを示す。

図 10 は、この発明の反応性チップにおけるキャプチャプローブの別の配置例を示した模式図である。四角は振動面を示し、アルファベット文字の違いは、キャプチャプローブが異なることを示す。

25

図 11 は、この発明の反応性チップにおけるキャプチャプローブのさらに別の配置例を示した模式図（左）と、この反応性チップを用いて染色体異常等を検出した場合の正常染色体の結合状態を例示した模式図（右）である。四角は振動面を示し、横方向の振動面に達する波線は振動子を示す。アルファベット文字
30 および数字の違いは、キャプチャプローブが異なることを示す。

図 12 は、この発明の反応性チップにおけるキャプチャープローブのまたさらに別の配置例を示した模式図である。四角は振動面を示し、アルファベット文字および数字の違いは、キャプチャープローブが異なることを示す。

5

図 13 は、図 11 に例示したキャプチャープローブの配置例（左）と、この反応性チップを用いて染色体異常（増幅）を検出した場合の結合状態を例示した模式図（右）である。四角は振動面を示し、横方向の振動面に連通する波線は振動子を示す。アルファベット文字および数字の違いは、キャプチャープローブが異なることを示す。

10

図 14 は、図 11 に例示したキャプチャープローブの配置例（左）と、この反応性チップを用いて染色体異常（欠失）を検出した場合の結合状態を例示した模式図（右）である。四角は振動面を示し、横方向の振動面に連通する波線は振動子を示す。アルファベット文字および数字の違いは、キャプチャープローブが異なることを示す。

15

図 15 は、図 12 に例示したキャプチャープローブの配置例（左）と、この反応性チップを用いて染色体異常（挿入）を検出したの結合状態を例示した模式図（右）である。四角は振動面を示し、アルファベット文字および数字の違いは、キャプチャープローブが異なることを示す。

20

図 16 は、図 12 に例示したキャプチャープローブの配置例（左）と、この反応性チップを用いて染色体異常（置換）を検出したの結合状態を例示した模式図（右）である。四角は振動面を示し、アルファベット文字および数字の違いは、キャプチャープローブが異なることを示す。

25

符号の説明

11 第 1 電極

30 12 第 2 電極

- 13、14 リード線
- 20 圧電／電歪素子
- 30 基板
- 31 肉薄領域
- 5 32 肉厚領域
- 40 振動発生部
- 50 振動面
- 60 キャプチャープローブ
- 70 コーティング層

10

発明を実施するための最良の形態

この出願の第 1 発明は、基板上に整列配置された 3 以上の振動面のそれぞれ
 15 に、標的物質に結合するキャプチャープローブが固定されていることを特徴とする反応性チップである。

「基板」は、通常の DNA チップやタンパク質チップ等を使用されるスライド
 グラス板やセラミックス板、プラスチック等の樹脂板、金属板等である。「キャ
 20 プチャープローブ」は、標的物質と特異的に結合する生体分子である。例えば、
 標的物質がゲノム DNA 由来の DNA 断片（例えば cDNA 等）の場合には、キャ
 プチャープローブは、相補性に基づいてこれら DNA 断片とハイブリダイズする
 1 本鎖の DNA 断片、RNA 断片、ヌクレオチド鎖（100 塩基以上のポリヌクレ
 オチドまたは 100 塩基未満のオリゴヌクレオチド）等である。また、標的物質
 25 がタンパク質の場合は、そのアミノ酸配列の一部に特異的に結合するタンパク質
 （例えばレセプタータンパク質）やペプチド等、あるいはタンパク質のエピト
 プに結合することができる抗体またはその Fab、F(ab')₂、Fv 断片等をキャプ
 チャープローブとすることもできる。さらには、糖鎖を有する複合生体分子、生体
 組織片、細胞、酵母等の微生物をキャプチャープローブとしてもよい。

30

これらのキャプチャプローブは、従来の DNA チップやタンパク質チップと同様に、公知の方法で基板上に配置することができる。例えば、DNA チップの場合には、基板上に DNA 断片（例えば 25 mer 程度）を合成する方法や、DNA 断片をスポッティング法によって基板上に固定する方法を採用することができる。

- 5 またスポッティング法の場合には、特開 2001-116750 号公報や特開 2001-186881 号公報に開示されているインクジェット方式を採用することが好ましい。スポッティングの後には、通常の反応性チップ製造と同様にして、スポットに対する水分付加（湿度～80%程度に一定時間保持）、高温乾燥によるベーキング、薬液処理による固定化処理等を行うことによって、各スポットを基板上に固定する。
- 10 さらに、スポッティング法による反応性チップの製造では、特開 2001-186880 号公報に開示されているような、スポッティング重ね打ちを行うようにしてもよい。タンパク質やペプチド、組織片や細胞等を固定する場合には、生体特異的吸着物質や有機高分子等を予めその固定面にコーティングし、このコーティング層にキャプチャプローブを固定するようにすればよい。

15

- 第 1 発明の反応性チップにおいて、キャプチャプローブは 3 以上の振動面にそれぞれ固定される。個々の「振動面」は、100～1000 μm 程度の距離をもって基板上に整列配置され、各振動面の大きさは、直径 50～500 μm 程度の円形、または一辺が 50～500 μm 程度の方形とすることができる。この振動面は、
- 20 特定の周波数や振幅で振動する面である。このような振動面は、例えば、基板のプローブ固定面の下面に適当な振動発生装置（例えば、電気磁石や低周波発生装置）を配設することによって作成することができるが、この出願においては、第 2 発明の構成を好ましい態様とする。

25

- 第 2 発明は、各振動面がそれぞれ、第 1 電極と第 2 電極間に圧電／電歪素子を介在させた振動部を有する反応性チップである。この場合の振動面は、例えば図 1 に示したような構造とすることができる。すなわち、図 1 の例では、第 1 電極(11)と第 2 電極(12)との間に圧電／電歪素子(20)を挿入して振動発生部(40)を構成し、この振動発生部(40)を基板(30)上に固定して振動面(50)としている。
- 30 第 1 電極(11)と第 2 電極(12)に交流電圧を印加すると、圧電／電歪素子(20)が電

圧周波数に応じて矢印 X 方向に連続的に伸縮するが、基板(30)は伸縮しないため、振動面(50)には結果として矢印 Y 方向の振動が発生する。振動の周期は電圧周波数に、振幅は電圧の大きさに応じて変化する。第 1 電極(11)、第 2 電極(12)および圧電／電歪素子(20)の関係は、図 2 および図 3 に例示したようにすることもできる。図 2 の例では、圧電／電歪素子(20)の上下に第 1 電極(11)を配し、圧電／電歪素子(20)の間に第 2 電極(12)を挿入している。この構成では、圧電／電歪素子(20)の X 方向への伸縮が増すことによって、Y 方向への振動量が大きくなる。また図 3 の例では、櫛型の第 1 電極(11)および第 2 電極(12)を基板(30)上に対向並置し、その間に圧電／電歪素子(20)を配置している。この場合には、圧電／電歪素子(20)の電界誘起歪の縦効果を用いて Y 方向の振動を得ているため、少ない電圧で十分な振動を得ることができる。

圧電／電歪素子(20)は、公知の圧電／電歪体または反強誘電体であって、例えば、ジルコン酸鉛、チタン酸鉛、マグネシウムニオブ酸鉛、ニッケルニオブ酸鉛、亜鉛ニオブ酸鉛、マンガンニオブ酸鉛、アンチモンズ酸鉛、マンガンタングステン酸鉛、コバルトニオブ酸鉛、チタン酸バリウム等のセラミックスを単独で、あるいは、これらのいずれかを組み合わせた成分を含有するセラミックスを採用することができる。特に、ジルコン酸鉛とチタン酸鉛およびマグネシウムニオブ酸鉛からなる成分を主成分とする材料が好適に用いられる。このような材料は、高い電気機械結合係数と圧電定数を有することに加え、圧電／電歪素子(20)の焼結時における基板(30)との反応性が小さく、所定の組成のものを安定に形成することができるためである。

さらに、上記のセラミックスに、ランタン、カルシウム、ストロンチウム、モリブデン、タングステン、バリウム、ニオブ、亜鉛、ニッケル、マンガン、セリウム、カドミウム、クロム、コバルト、アンチモン、鉄、イットリウム、タンタル、リチウム、ビスマス、スズ等の酸化物、もしくはこれらいずれかの組み合わせ、または他の化合物を適宜に添加したセラミックスを用いてもよい。たとえば、ジルコン酸鉛とチタン酸鉛およびマグネシウムニオブ酸鉛を主成分とし、これにランタンやストロンチウムを含有するセラミックスを用いることもまた好ましく、

さらに、マンガンを加えたものは圧電材料の機械的品質係数（Q 値）が大きく、反応性チップの構造面からだけでなく、材料面からも Q 値を大きくすることができ、好ましい。

- 5 第 1 電極(11)および第 2 電極(12)は、室温で固体である導電性の金属で構成されていることが好ましく、たとえば、アルミニウム、チタン、クロム、鉄、コバルト、ニッケル、銅、亜鉛、ニオブ、モリブデン、ルテニウム、パラジウム、ロジウム、銀、スズ、タンタル、タングステン、イリジウム、白金、金、鉛等の金属単体あるいはこれらのいずれかを組み合わせた合金を用いることができる。さらに、これらの金属に圧電／電歪素子(20)あるいは基板(30)と同じ材料を分散させたサーメット材料を用いてもよい。

- 15 以上の材料によって振動発生部(40)および振動面(50)を形成するには、例えば、図 1 の構造の場合には、基板(30)上に第 2 電極(12)を形成した後、この第 2 電極(12)上に圧電／電歪素子(20)を焼成し、最後に第 1 電極(11)を形成する。あるいは第 1 電極(11)、第 2 電極(12)および圧電／電歪素子(20)を基板(30)上に一体焼成して形成することもできる。このような一体焼成による振動面(50)の成形は、図 2、図 3 の構造の場合には特に好ましい。

- 20 さらに、第 1 電極(11)および第 2 電極(12)、並びにそれぞれのリード線の標識物質に接する箇所は絶縁被覆してもよい。この被覆材料としては、絶縁性のガラスまたは樹脂を使用することができる。樹脂としては、化学的安定性に優れたフッ素樹脂、例えば、四フッ化エチレン樹脂系テフロン（デュボン（株）製のテフロン PTFE）、四フッ化エチレン・六フッ化プロピレン共重合体樹脂系テフロン
25 （テフロン FEP）、四フッ化エチレン・パーフロロアルキルビニルエーテル共重合体樹脂系テフロン（テフロン PFA）、PTFE/PFA 複合テフロン等が例示できる。また、シリコーン樹脂（中でも熱硬化型のシリコーン樹脂）や、エポキシ樹脂、アクリル樹脂等も目的に応じて使用することができる。さらに、絶縁性樹脂に無機・有機充填材を添加し、振動面(50)の剛性を調整することも好ましい。

なお、振動面(50)の厚みを薄くすると、例えば、後述する共振周波数測定の際の感度が向上するが、その一方で、剛性が低下するといった問題が生ずるため、基板(30)および振動発生部(40)からなる振動面(50)の厚みの合計は $5 \sim 50 \mu\text{m}$ 程度とすることが好ましい。

5

図 4 は、第 2 発明の反応性チップの一実施例を示した側断面図である。この図 4 に例示した反応性チップは、基板(30)の表面に第 2 電極(12)、圧電／電歪素子(20)および第 1 電極(11)を積層一体化している。そして、第 1 電極(11)の表面にキャプチャプローブ(60)を配設している。キャプチャプローブ(60)は、この図 4 の例のように振動発生部(40)の表面に直接固定することもでき、または図 5 に例示したように、振動発生部(40)の表面をコーティングし、このコーティング層(70)にキャプチャプローブ(60)を固定するようにしてもよい（第 3 発明）。すなわち、このコーティング層(70)は、キャプチャプローブ(60)の固定を容易とするための材料であって、キャプチャプローブ(60)の種類によって、例えばポリヌクレオチド、シリジン層、 γ アミノプロピルトリエトキシラン等のシラン剤およびその誘導体、ビオチン／アビジン等の生体特異的吸着物質、ポリアクリルアミドやナイロン膜等の有機高分子等から適宜に選択される。

図 4 および図 5 の例において、基板(30)は、肉薄領域(31)とその周囲の肉厚領域(32)とを有し、肉薄領域(31)が、その上面に振動発生部(40)を備えた振動面(50)となっている（第 4 発明）。このような肉薄領域(31)と肉厚領域(32)を設けることによって、反応性チップ全体の剛性を維持し、かつ振動面(50)において好適な振動を発生させることができる。この肉厚領域(32)と肉薄領域(31)は、例えば図 6 に例示したように、肉厚領域(32)の下端を延設させて、肉薄領域(31)の下方を空洞とすることもできる。このような構造は、基板(30)の全体的剛性の向上のために好ましい。

さらにまた、この発明の反応性チップは、図 7 に例示したように、その振動発生部(40)を基板の肉薄領域(31)の下方に配設することもできる（第 5 発明）。このように構成を採用することによって、表面がフラットな反応性チップが容易

30

に実現できる。また、振動発生部(40)がサンプル溶液に直接触れることがないため、チップの耐久性が向上し、さらに、後述する共振周波数の測定の場合にもノイズの影響を排除してより正確な測定が可能となる。

- 5 この発明の反応性チップは、さらに別の態様として、図 7 の平面図に例示したように、それぞれの振動発生部(40)から引き出される第 1 電極(11)と第 2 電極(12)のそれぞれのリード線(13)(14)を、振動発生部毎に独立とすることができる(第 6 発明)。これによって、それぞれの振動面(50)を異なった周波数または振
10 幅で振動させることが可能となる。あるいは、さらに別の態様として、第 1 電極(11)と第 2 電極(12)のいずれか一方のリード線を共通とすることもできる(第 7 発明)。例えば、図 8 の例では、第 1 電極(11)のリード線(13)を共通としており、リード線の加工を簡略化することが可能となる。また、4 以上の振動面を格子状に配置する場合には、同一列の振動面における電極リード線を共通とし、この同一列の振動面を同一振幅で振動させるようにしてもよい。

15

- この出願の第 8 発明の反応性チップは、振動面の共振周波数を測定する手段を有している。この共振周波数の測定に関する原理と具体的方法等は、この出願人が先に特許出願した発明(再表 99/034176 公報、特開平 08-201265 号公報)と基本的に同一であり、再表 99/034176 公報および特開平 08-201265 号
20 公報に記載の方法に従って測定手段を構成することができる。すなわち、このような共振周波数は、具体的には、振動面に外部から何らかの物質が付着した時や、振動面に接するサンプル液の比重や粘度が変化した時に、振動面の共振周波数が変化することを、圧電/電歪素子を含む回路の電気的定数の変化として検出することができる。

25

- この出願の第 9 発明の反応性チップは、第 1 電極表面がキャプチャプローブ固定面であり、第 1 電極および第 2 電極が、交流電源に加え、さらに直流電源にも導通している。すなわち、この反応性チップは、第 1 電極および第 2 電極に対する交流電源の通電によって振動面を振動させることができることに加え、
30 キャプチャプローブ固定面である第 1 電極に正または負の直流電流を通電さ

せることができる。このような直流電流の通電は、特表 2001-501301 号公報の記載に準じて行うことができる。

第 10 発明は、各振動面に、それぞれ異種のキャプチャープローブを固定した
5 反応性チップである。この場合の「異種」とは、例えば DNA 断片であればそれ
ぞれの塩基配列が異なること、ペプチドであればアミノ酸配列が異なることを意
味する。例えば、図 9 の例では、16 個の振動面に A~P までの異なるキャプチ
ャープローブが固定されている。そして、この第 10 発明の反応性チップは、第
19 発明の標的物質検出方法に使用することができる。

10

発明 19 の方法は、キャプチャープローブと結合する標的物質を検出する方法
であって、前記第 10 発明の反応性チップの振動面を振動させた状態で、標識化
標的物質を含む試料を反応性チップのキャプチャープローブに接触させ、振動面
の振動を停止し、標識を指標としてキャプチャープローブに結合した標的物質を
15 検出することを特徴とする。

この発明の方法は、通常の反応性チップにおける標的物質の検出に際して「キ
ャプチャープローブ固定面を振動させる」工程を付加することによって特徴とする。す
なわち、この振動によって、反応性チップに接触するサンプル溶液内の標的物質
20 が、自然拡散の程度よりもさらに強く拡散され、その結果として、標的物質とキ
ャプチャープローブとの特異的結合が促進される。さらに、キャプチャープロー
ブを振動させた状態でハイブリダイゼーションを行うことによって、ミスマッチ
による結合や非特異的吸着を排除または低減することができる。これによって、
単一塩基が異なる DNA 断片（例えば SNPs）や立体構造の異なる分子を、それ
25 ぞれに対応したキャプチャープローブへの結合として検出することが可能となる。

なお、振動面を振動させる時間間隔は、キャプチャープローブや標的物質の種
類等に応じて適宜に設定することができるが、例えば DNA チップの場合は 1 秒
~32 時間程度とすることができる。また、振動面の振動周波数は、10~1 MHz
30 程度、振幅は 0.001~10 μm 程度とすることができる。

この方法において、標的物質の標識化は、その物質の種類に応じて、酵素、放射性同位体、蛍光色素、蛍光タンパク質等を使用することができる。酵素は、turnover number が大であること、抗体と結合させても安定であること、基質を特異的に着色させる等の条件を満たすものであれば特段の制限はなく、例えば、

5 ペルオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、グルコースオキシダーゼ、アセチルコリンエステラーゼ、グルコース-6-リン酸化脱水素酵素、リンゴ酸脱水素酵素等を用いることもできる。また、酵素阻害物質や補酵素等を用いることもできる。基質としては、使用する酵素の種類に応じて公

10 知の物質を使用することができる。例えば酵素としてペルオキシダーゼを使用する場合には、3,3',5,5'-テトラメチルベンジシンを、また酵素としてアルカリフォスファターゼを用いる場合には、パラニトロフェノール等を用いることができる。放射性同位体としては、 ^{125}I や ^3H 等を、蛍光色素としては、フルオレッセン

15 スイソチオシアネート (FITC) やテトラメチルローダミンイソチオシアネート (TRITC) 等を使用することができる。また、蛍光タンパク質とは励起光を照射すると蛍光を発するタンパク質であり、例えば、発光クラゲ由来の緑色蛍光蛋白質 (GFP) や、その変異体である EGFP、EYFP (黄色蛍光)、ECFP (青色蛍光)、DsRed1 (赤色蛍光)、DsRed2、ウミシイタケ由来の緑色蛍光蛋白質 hrGFP などが例示できる。

20 以上のとおりの標識物質と標的物質とは、例えば、水素結合、疎水結合、イオン結合、配位結合等に基づく結合によって一体化することができる。さらにまた、蛍光タンパク質はそれをコードするポリヌクレオチド配列が公知であることから、蛍光タンパク質標識化 DNA 断片や蛍光タンパク質標識化タンパク質またはペプチド等は公知の遺伝子工学的方法によって容易に調製することもできる。

25 以上の標識を指標としてキャプチャープローブに結合した標的物質を検出するには、例えば酵素標識の場合には、酵素作用によって分解して発色する基質を加え、基質の分解量を光学的に測定することによって酵素活性を求め、これを結合標的物質量に換算し、標準値との比較から標的物質量が算出される。放射生同位体を用いる場合には、放射性同位体の発する放射線量をシンチレーションカウンター等により測定する。また、蛍光色素や蛍光タンパク質を用いる場合には、蛍光顕微鏡

30

を組み合わせた測定装置によって蛍光量を測定すればよい。

第 11 発明の反応性チップは、前記第 10 発明の反応性チップの一態様であって、前記第 8 発明と同様に「圧電／電歪素子の共振周波数を測定する手段」を有する反応性チップである。この第 11 発明の反応性チップは、第 20 発明の標的物質検出方法に使用することができる。

第 20 発明の方法は、キャプチャプローブと結合する標的物質を検出する方法であって、前記第 11 発明の反応性チップの振動面を振動させた状態で、標的物質を含む試料を反応性チップのプローブに接触させ、圧電／電歪素子の共振周波数の変化を指標として標的物質を検出することを特徴としている。

すなわち、この方法は、キャプチャプローブへの標的物質の結合によって生じる振動面の共振周波数の変化を指標として標的物質の検出を行う方法である。この方法によれば、標的物質を標識することなく検出することが可能となる。また、標的物質の結合量を、経時的にリアルタイムで測定することもできる。さらに、標的物質を標識して、前記第 19 発明の方法と同様に標識を指標とする検出と組み合わせて、より高精度の検出を行うこともできる。

さらに第 11 発明の反応性チップは、第 21 発明の標的物質検出方法に使用することもできる。

第 21 発明の方法は、前記第 20 発明の方法の一態様であって、反応性チップの振動面を振動させると共に、温度を経時的に変化させた状態でプローブに試料を接触させ、圧電／電歪素子の共振周波数の変化を指標として標的物質を経時的に検出する方法である。例えば、DNA チップの場合、振動面を振動させた状態でハイブリダイゼーション反応の温度を 38～98℃程度まで一定の時間内（例えば 10 分間隔）で変化させ、その間にキャプチャプローブ DNA にハイブリダイズした標的 DNA の質量を測定することによって、各標識 DNA の Tm（融解温度）を検出することができる。

第 12 発明の反応性チップは、前記第 10 発明の別の態様であって、第 1 電極表面がキャプチャブローブ固定面であり、第 1 電極および第 2 電極が、交流電源に加え、さらに直流電源にも導通している反応性チップである。この第 12 5 発明のチップは、第 22 発明の標的物質検出方法に使用することができる。

第 22 発明の方法は、キャプチャブローブと結合する標的物質を検出する方法であって、前記第 12 発明の反応性チップの振動面を振動させた状態で、標識化標的物質を含む試料を反応性チップのブローブに接触させ、振動面の振動を停止した後、キャプチャブローブ固定面である第 1 電極に負の直流電流を一定時間通電し、標識を指標としてキャプチャブローブに結合した標的物質を検出 10 することを特徴とする。この方法は、前記第 19 発明の方法と、特表平 09-503307 号公報、特表 2001-501301 号公報等に記載されたナノチップによる方法とを組み合わせたものであり、特に前記第 12 発明の反応性チップを DNA チップとして使用するための方法である。キャプチャブローブ固定面の振動と、 15 キャプチャブローブを負に電荷させることを組み合わせることによって、標識 DNA とブローブ DNA のミスマッチ結合を効率良く排除することができる。

直流電流は、使用される溶液、振動面の寸法、DNA の濃度等により適宜とすることができ、0.1~1000 ナノアンペア、好ましくは 1~30 ナノアンペア 20 程度の電流を 1~180 秒、好ましくは 10~60 秒程度、通電させることができる。

次に、第 13 発明の反応性チップは、前記第 2 から第 7 発明のさらにまた別の態様であって、3 以上の振動面を同一列、または 4 以上の振動面を n (n は 2 以上) $\times m$ (m は 2 以上) の格子状に整列配置し、同一列の各振動面に同一種の 25 キャプチャブローブを固定した反応性チップである。

この場合の「同一種」とは、例えば DNA 断片であればそれぞれの塩基配列が全く同一であること、ペプチドであればアミノ酸配列が完全に同一であることを 30 意味する。例えば、図 10 の例では、第 1 列の 4 つの振動面にそれぞれ同一のキ

キャプチャープローブ(A)が固定されており、第 2~4 列には、それぞれ同一のキャプチャープローブ(B)、(C)および(D)が固定されている。そして、この第 13 発明の反応性チップは、第 23 発明の標的物質検出方法に使用することができる。

- 5 第 23 発明の方法は、複数種の標的物質のキャプチャープローブに対する親和性を検出する方法であって、前記第 13 発明の反応性チップの同一列振動面の各振動面を異なる振幅で振動させた状態で、各種の標識化標的物質を反応性チップのキャプチャープローブに接触させ、振動面の振動を停止し、標識を指標としてキャプチャープローブに結合した標的物質のそれぞれのプローブに対する親和性
10 の程度を検出することを特徴とする。

- すなわちこの方法によれば、同一列振動面の各振動面を異なる振幅で振動させた状態で、標的物質とキャプチャープローブとのハイブリダイゼーションを行い、標識を指標としてプローブに結合した標的物質量を検出することによって、親和
15 力の強い標的物質から順次にソーティングすることが可能となる。また、第 14 発明の反応性チップを用いた第 24 発明の方法では、共振周波数の違いによって測定される質量を指標として経時的なソーティングを行いことができ、第 25 発明の方法では、温度変化を伴うハイブリダイゼーションをことができる。さらに、
20 第 15 発明の反応性チップを用いた第 26 発明の方法では、キャプチャープローブ固定面の振動と、キャプチャープローブを負に電荷させることを組み合わせることによって、標識 DNA とプローブ DNA との親和性をさらに高精度で検出することができる。

- 第 16 発明の反応性チップは、前記第 2 から第 7 発明のまたさらに別の態様であって、3 以上の振動面を同一列、または 4 以上の振動面を n (n は 2 以上) \times m (m は 2 以上) の格子状に整列配置し、同一列の振動面に、標的物質の異なる部位に結合するキャプチャープローブをそれぞれ固定した反応性チップである。
25 この場合の「標的物質の異なる部位に結合する」とは、例えば DNA 断片であればその塩基配列の異なる領域に結合すること、ペプチドであればその全長アミノ酸配列の異なる領域に結合することを意味する。例えば、図 11 の例では、染色
30

体 DNA(A)の端から順次に 4 つの領域に対応するキャプチャープローブ A1~A4
 を第 1 列の 4 つの振動面に固定し、第 2~4 列には染色体(B)~(D)の 4 領域に対
 応するキャプチャープローブをそれぞれ固定している。また、図 12 の例では、
 4×4 の格子状の振動面に、染色体 DNA(A)の端から順次に 4 つの領域の様々な
 5 組み合わせに対応するキャプチャープローブをそれぞれ固定している。

そして、このような第 16 発明の反応性チップは、第 27 発明の標的物質検出
 方法に使用することができる。

10 第 27 発明の方法は、標記物質の変異を検出する方法であって、前記第 16 発
 明の反応性チップの同一列振動面を振動させた状態で、標識化標的物質含む試料
 を反応性チップのキャプチャープローブに接触させ、振動面の振動を停止し、標
 識を指標としてキャプチャープローブに結合した標的物質を検出することによっ
 て、標的物質の変異を検出することを特徴とする。ここで、「変異」とは欠失、
 15 置換、挿入、増幅、反復等を意味する。さらに具体的には、染色体 DNA のこれ
 らの変異や、それに対応した mRNA や cDNA の変異、あるいはそれらの発現産
 物であるタンパク質やペプチドの同様の変異を意味する。

例えば、図 11 の構成でキャプチャープローブを固定した場合、標的物質（染
 20 色体 DNA）が正常であれば、図 11 の右図に示したように、各プローブに対し
 てそれぞれに標的物質が結合する。しかし、図 13 に示したようにプローブ 3 お
 よび 4 に対する結合量が 2 倍となる場合には、これらのプローブ 3 および 4 に
 対応する染色体 DNA 領域 3-4 が増幅していることを検出することができる。ま
 た、図 14 に示したように、プローブ 1、2 および 4 には結合し、プローブ 3 に
 25 対する結合がない場合には、プローブ 3 に対応する染色体 DNA 領域 3 が欠失し
 ていることを検出することができる。

さらに、図 12 の構成でキャプチャープローブを固定することによって、例え
 ば染色体 DNA の挿入や置換を検出することができる。例えば、図 15 の左欄に
 30 示したように、標的物質（染色体 DNA）が A1~A4 単独のプローブ、および

5 A1+2 と A3+4 のプローブに結合した場合には、図 15 の右欄に示したように染色体 DNA の領域 2 と 3 の間に X 配列が挿入していることを検出できる。また、図 16 の左欄に示したように、染色体 DNA が A1~A4 単独のプローブ、A1+2、A2+4、A3+4、A1+2+4 プローブに結合した場合には、図 16 の右欄に示したように染色体 DNA の領域 3 と 4 が置換していることを検出できる。

10 また、第 17 発明の反応性チップを用いた第 28 発明の方法では、共振周波数の違いによって測定される質量を指標として標的物質の変異を検出することができる。例えば図 13 の例では質量は 6/4 倍に、図 14 の例では質量は 3/4 倍として検出される。さらに、第 18 発明の反応性チップを用いた第 29 発明の方法では、キャプチャープローブ固定面の振動と、キャプチャープローブを負に電荷

15 させることを組み合わせることによって、標識 DNA における変異をさらに高精度で検出することができる。

15 もちろん、この出願の発明は以上の例によって限定されるものではなく、細部については様々な態様が可能であることは言うまでもない。

産業上の利用可能性

20 以上詳しく説明したとおり、この出願の発明によって、広範な標的物質に対して、反応時間の短縮を可能とし、しかもミスマッチ結合を効果的に予防して高精度な検出を可能とする新しい反応性チップが提供さえる。また、この反応性チップを用いた新しい標的物質検出方法が提供される。この検出方法では、従来の反

25 応性チップでは不可能であった、標的物質の微量な相違をも検出することが可能となる。

請求の範囲

1. 基板上に整列配置された 3 以上の振動面のそれぞれに、標的物質に結合するキャプチャプローブが固定されていることを特徴とする反応性チップ。
- 5 2. 各振動面がそれぞれ、第 1 電極と第 2 電極間に圧電／電歪素子を介在させた振動発生部を有する請求項 1 の反応性チップ。
- 10 3. キャプチャプローブの固定面がコーティングされている請求項 2 の反応性チップ。
4. 基板が肉薄領域とその周囲の肉厚領域を有し、肉薄領域の上面に振動発生部を有する請求項 2 または 3 の反応性チップ。
- 15 5. 基板が肉薄領域とその周囲の肉厚領域を有し、肉薄領域の下面に振動発生部を有する請求項 2 または 3 の反応性チップ。
6. 第 1 電極と第 2 電極のそれぞれのリード線が、振動発生部毎に独立である請求項 2 から 5 のいずれかの反応性チップ。
- 20 7. 第 1 電極と第 2 電極のいずれか一方のリード線が共通である請求項 2 から 5 のいずれかの反応性チップ。
8. 振動面の共振周波数を測定する手段を有する請求項 2 から 7 のいずれかの
- 25 反応性チップ。
9. 第 1 電極表面がキャプチャプローブ固定面であり、第 1 電極および第 2 電極が、交流電源に加え、さらに直流電源にも導通している請求項 2 から 7 の
- 30 いずれかの反応性チップ。

10. 各振動面に、それぞれ異種のキャプチャープローブを固定した請求項 2 から 7 のいずれかの反応性チップ。

5 11. 圧電／電歪素子の共振周波数を測定する手段を有する請求項 10 の反応性チップ。

12. 第 1 電極表面がキャプチャープローブ固定面であり、第 1 電極および第 2 電極が、交流電源に加え、さらに直流電源にも導通している請求項 10 の反応性チップ。

10

13. 3 以上の振動面を同一列、または 4 以上の振動面を n (n は 2 以上) $\times m$ (m は 2 以上) の格子状に整列配置し、同一列の各振動面に同一種のキャプチャープローブを固定した請求項 2 から 7 の反応性チップ。

15 14. 振動面の共振周波数を測定する手段を有する請求項 13 の反応性チップ。

15. 第 1 電極表面がキャプチャープローブ固定面であり、第 1 電極および第 2 電極が、交流電源に加え、さらに直流電源にも導通している請求項 13 の反応性チップ。

20

16. 3 以上の振動面を同一列、または 4 以上の振動面を n (n は 2 以上) $\times m$ (m は 2 以上) の格子状に整列配置し、同一列の振動面に、標的物質の異なる部位に結合するキャプチャープローブをそれぞれ固定した請求項 2 から 7 の反応性チップ。

25

17. 振動面の共振周波数を測定する手段を有する請求項 16 の反応性チップ。

18. 第 1 電極表面がキャプチャープローブ固定面であり、第 1 電極および第 2 電極が、交流電源に加え、さらに直流電源にも導通している請求項 16 の反応性チップ。

30

19. キャプチャプローブと結合する標的物質を検出する方法であって、請求項 10 の反応性チップの振動面を振動させた状態で、標識化標的物質を含む試料を反応性チップのキャプチャプローブに接触させ、振動面の振動を停止し、
5 標識を指標としてキャプチャプローブに結合した標的物質を検出することを特徴とする標的物質の検出方法。
20. 振動面を振動させると共に、温度を経時的に変化させた状態で試料をキャプチャプローブに接触させる請求項 19 の検出方法。
- 10 21. キャプチャプローブと結合する標的物質を検出する方法であって、請求項 11 の反応性チップの振動面を振動させた状態で、標的物質を含む試料を反応性チップのキャプチャプローブに接触させ、振動面の共振周波数の変化を指標として標的物質を検出する標的物質の検出方法。
- 15 22. 反応性チップの振動面を振動させると共に、温度を経時的に変化させた状態でキャプチャプローブに試料を接触させ、振動面の共振周波数の変化を指標として標的物質を経時的に検出する請求項 21 の検出方法。
- 20 23. キャプチャプローブと結合する標的物質を検出する方法であって、請求項 12 の反応性チップの振動面を振動させた状態で、標識化標的物質を含む試料を反応性チップのキャプチャプローブに接触させ、振動面の振動を停止した後、キャプチャプローブ固定面である第 1 電極に負の直流電流を一定時間通電し、標識を指標としてキャプチャプローブに結合した標的物質を検出すること
25 を特徴とする標的物質の検出方法。
24. 複数種の標的物質のキャプチャプローブに対する親和性を検出する方法であって、請求項 13 の反応性チップの同一列振動面の各振動面を異なる振幅で振動させた状態で、各種の標識化標的物質を反応性チップのキャプチャプローブに接触させ、振動面の振動を停止し、標識を指標としてキャプチャプローブ
30

ブに結合した標的物質のそれぞれのキャプチャプローブに対する親和性の程度を検出することを特徴とする標的物質の検出方法。

25. 振動面を振動させると共に、温度を経時的に変化させた状態で試料をキャプチャプローブに接触させる請求項 24 の検出方法。

26. 複数種の標的物質のキャプチャプローブに対する親和性を検出する方法であって、請求項 14 の反応性チップの同一列振動面を異なる振幅で振動させた状態で、標的物質を反応性チップのキャプチャプローブに接触させ、振動面の共振周波数の変化を指標として標的物質のそれぞれのキャプチャプローブに対する親和性の程度を検出する標的物質の検出方法。

27. 反応性チップの振動面を振動させると共に、温度を経時的に変化させた状態でキャプチャプローブに試料を接触させ、振動面の共振周波数の変化を指標として標的物質の有無を経時的に検出する請求項 26 の検出方法。

28. 複数種の標的物質のキャプチャプローブに対する親和性を検出する方法であって、請求項 15 の反応性チップの同一列振動面の各振動面を異なる振幅で振動させた状態で、各種の標識化標的物質を反応性チップのキャプチャプローブに接触させ、振動面の振動を停止した後、プローブ固定面である第 1 電極に負の直流電流を一定時間通電し、標識を指標としてキャプチャプローブに結合した標的物質のそれぞれのプローブに対する親和性の程度を検出することを特徴とする標的物質の検出方法。

29. 標記物質の変異を検出する方法であって、請求項 16 の反応性チップの同一列振動面を振動させた状態で、標識化標的物質含む試料を反応性チップのキャプチャプローブに接触させ、振動面の振動を停止し、標識を指標としてキャプチャプローブに結合した標的物質を検出することによって、標的物質の変異を検出することを特徴とする標的物質の検出方法。

30. 標記物質の変異を検出する方法であって、請求項 17 の反応性チップの同一列振動面を振動させた状態で、標的物質を含む試料を反応性チップのキャプチャープローブに接触させ、振動面の共振周波数の変化を指標として標的物質の有無を検出することによって、標的物質の変異を検出することを特徴とする標的物質の検出方法。
- 5

31. 標記物質の変異を検出する方法であって、請求項 18 の反応性チップの同一列振動面を振動させた状態で、標識化標的物質を含む試料を反応性チップのキャプチャープローブに接触させ、振動面の振動を停止した後、プローブ固定面である第 1 電極に負の直流電流を一定時間通電し、標識を指標としてキャプチャープローブに結合した標的物質を検出することによって、標的物質の変異を検出することを特徴とする標的物質の検出方法。
- 10

要約書

- 広範な標的物質に対して、反応時間の短縮を可能とし、しかもミスマッチ結合を効果的に予防して高精度な検出を可能とする新しい反応性チップを提供する。
- 5 すなわち、この発明の反応性チップは、基板(30)上に整列配置された3以上の振動面(50)のそれぞれに、標的物質に結合するキャプチャプローブ(60)が固定されており、各振動面は第1電極(11)と第2電極(12)間に圧電／電歪素子(20)を介在させた振動発生部(40)を有する。